



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC**

# **PARTICIPAÇÃO DA VIA NORADRENÉRGICA EM UM MODELO DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RESERPINA**

**Avaliações Neuronais e ultra estruturais associadas a alterações  
comportamentais nas fases iniciais de um modelo animal progressivo da  
Doença de Parkinson**

Área do conhecimento: Neurofisiológicas  
Subárea do conhecimento: Neurociências  
Especialidade do conhecimento: Doença de Parkinson

Relatório Final  
Período da bolsa: de Agosto de 2018 a Julho de 2019

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PIBIC/CNPq

Orientador: José Ronaldo dos Santos  
Coorientador: Auderlan Mendonça de Góis  
Autor: Mylaine Santos Mendonça



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **Sumário**

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>4</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>10</b>
3.1 Animais.....	10
3.2 Delineamento Experimental.....	11
3.3 Teste Comportamental .....	11
3.3.1 Catalepsia .....	11
3.5 Imuno-histoquímica .....	13
3.6 Aquisição de Imagens, Densidade Óptica Relativa (DOR).....	14
3.7 Estatística .....	14
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>15</b>
4.1 Teste de Catalepsia .....	15
4.2 Análise Histológica .....	17
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>23</b>
<b>6. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>24</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>
<b>8. OUTRAS ATIVIDADES .....</b>	<b>31</b>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **1. Introdução**

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa crônica de natureza idiopática que afeta principalmente homens com média de 60 anos de idade (HIRSCH et al., 2016), caracterizada pela redução de dopamina estriatal e perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta (SNpc), a morte desses neurônios nas via nigroestriatal, mesolímbica, tuberoinfundibular está associada a disfunção motora e não motora característica na DP (GROSCH; WINKLER; KOHL, 2016; SUGAMA; KAKINUMA, 2016).

A doença foi descrita pela primeira vez em 1817, pelo médico James Parkinson, que observou em alguns pacientes, sintomas como tremor, rigidez muscular, curvatura do corpo, alteração da marcha, sem alterações de sentidos e intelecto, e com base nessas observações nomeou a doença como “paralisia agitante” (BERRIOS, 2016; PARKINSON, 2002). Entretanto, Além de James Parkinson, outros pesquisadores tiveram forte participação na descrição das características clínicas da doença. Drente eles, o médico Jean-Martin Charcot teve grande influência na descrição e diagnóstico clínico da DP que além dos sintomas descritos por James Parkinson, adicionou sintomas que surgiam com o avanço da doença, como disfunção da memória e da “inteligência”. Além disso, como forma de reconhecimento a James Parkinson, Charcot sugeriu que a doença “paralisia agitante” fosse chamada de “doença de Parkinson” (WALUSINSKI; VULPIAN; LONDE, 2018).

Nos últimos anos, estudos epidemiológicos mostram que a incidência da DP tem variado entre 10 a 20 casos por 100.000 habitantes-ano, em diferentes regiões geográficas (TYSNES; STORSTEIN, 2017). Do mesmo modo, há uma maior prevalência da DP entre pessoas na faixa etária entre 70 e 79 anos de



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

idade, e com o aumento da expectativa de vida a prevalência da doença tende a aumentar com o passar dos anos (PRINGSHEIM et al., 2014).

Estudos em tecido cerebral pós-morte de pacientes em estágios iniciais da DP mostram uma redução de aproximadamente 30% dos neurônios dopaminérgicos, sendo observado degeneração dos terminais axonais antes de danos no corpo celular desses neurônios, semelhante ao observado em modelos animais de MPTP (1-metil-4-fenil1,2,3,6-tetrahidropiridina) e 6-OHDA (6-hidroxidopamina) (BURKE; MALLEY, 2013; CHALON; GROSS; BEZARD, 2003; ÇOLAK; ÖZTÜRKLER, 2012; GEE et al., 2016). Por outro lado, os sintomas motores e não motores da DP se manifestam a partir de, aproximadamente, 60% da morte dos neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal (HAAS et al., 2016; QUIROGA-VARELA et al., 2017; SANTOS et al., 2013).

A morte de neurônios dopaminérgicos, na via nigroestriatal, está relacionada as disfunções motoras e cognitivas. No entanto, os sintomas não motores aparecem bem antes dos sintomas motores (WU et al., 2012). Um estudo realizado com pacientes de DP recém-diagnosticados, não tratados farmacologicamente, avaliou o aparecimento dos sintomas de acordo com o avanço da doença e observaram que os sintomas mais comuns na fase pré-motora, 2 anos antes dos sintomas motores, são anedonia, apatia, déficit de memória e falta de atenção. Entre 2 a 10 anos, foram observados disfunção do olfato e do paladar, distúrbios do humor, sudorese excessiva, fadiga e dor, e os sintomas não motores percebidos mais de 10 anos antes dos sintomas motores foram constipação, transtorno de comportamento do sono REM, pesadelos frequentes, sonolência diurna excessiva e dispepsia (PONT-SUNYER et al., 2014; ZHANG et al., 2016). Além desses, demência e declínio cognitivo (AARSLAND et al., 2017), ansiedade e depressão (PFEIFFER, 2016), são mencionados como sintomas não motores. Entre os sintomas motores, são observados em pacientes



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

da DP, tremor em repouso, rigidez, disfagia, alteração da marcha, postura e na fala, além de dificuldade na deglutição (DI BIASE; FASANO, 2016).

Vários fatores de risco estão associados à doença, com exposição a pesticidas, uso de produtos lácteos, traumatismo cranioencefálico, melanoma e, principalmente, mutações genéticas (ASCHERIO; SCHWARZSCHILD, 2016; MAO et al., 2019; LEE et al., 2018). A exposição a esses fatores de risco podem levar a morte de neurônios dopaminérgicos provocando a agregação proteica de alfa-sinucleína, principal componente dos corpos de Lewy, que na maioria dos casos, essa agregação está associada à mutação dos genes A53T, LRRK2, G2019S, TRIM28, e principalmente, SNCA que codifica a proteína alfa-sinucleína (HU et al., 2018; LEE et al., 2018; POLYMERPOULOS et al., 1997; ROUSSEAU; HARO; ZOGHBI, 2018), provocando superexpressão e desdobramento incorreto da proteína, a qual se agrega a outros componentes formando os corpos de Lewy (TOLÖ et al., 2018; KANG et al., 2018).

Estudos genéticos mostram que há um aumento na expressão do gene SNCA (triplicação) e da proteína alfa-sinucleína em pacientes da DP (ZAFAR et al., 2018). No entanto, acredita-se que o acúmulo de alfa-sinucleína é formada pelas diversas formas oligômeras da proteína, uma vez que seus monômeros não alteram a conformação molecular e não estão relacionados à agregação proteica (ALMEIDA et al., 2016). A agregação de alfa-sinucleína está associada a mecanismos fisiopatológicos observados na DP, como estresse oxidativo e disfunção mitocondrial que podem levar à morte dos neurônios dopaminérgicos (LEÃO et al., 2015; TOLÖ et al., 2018; VILLEGAS PEDRAZA et al., 2014).

Apesar de ser considerada, há décadas, uma doença dopaminérgica, trabalhos mais recentes têm demonstrado que outras vias estão envolvidas com a fisiopatologia da doença, como a via serotoninérgica (POLITIS; NICCOLINI, 2015) e a noradrenérgica (SUGAMA et al., 2014). Estudos em modelos animais mostram



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

diminuição da expressão de 5-HT, ou seja, na imunorreatividade de serotonina na região CA1 e CA3 do hipocampo, demonstrando assim alteração na via serotoninérgica (LEAL et al., 2019), além de, redução de células serotoninérgicas B5 no núcleo da rafe em fase terminal da DP e de neurônios noradrenérgicos no Locus Coeruleus que podem anteceder a morte de neurônios dopaminérgicos na substância negra, sugerindo que a via noradrenérgica esteja envolvida com sintomas não motores (HALLIDAY et al., 2014; SUGAMA et al., 2014; KOTAGAL et al., 2012). Estudos de eletroencefalograma em pacientes da DP antes dos sintomas motores, mostram que a perda de neurônios da via noradrenérgica está relacionada a distúrbios de sono REM (Movimento rápido dos olhos) e alta atividade muscular durante esse período (SOMMERAUER et al., 2018). Além disso, vários estudos têm sugerido que o uso de agonistas noradrenérgicos beta-2, como por exemplo o salbutamol prescrito principalmente em casos de doenças pulmonares obstrutiva crônica, frequentemente causadas por abuso de nicotina, estaria associado a um menor risco de desenvolvimento de DP, enquanto o uso do antagonista noradrenérgicos beta-2, como por exemplo o propranolol prescrito principalmente em casos de doenças cardiovasculares, estaria associado a um maior risco de desenvolvimento da doença (GRONICH et al., 2018; HOPFEN et al., 2019). No entanto, a redução do risco de DP pelos agonistas beta-2 podem estar associados indiretamente a outras substâncias, como por exemplo uso de tabaco (HOPFEN et al., 2019). Fortalecendo essa ideia de redução do risco de DP por através do uso de agonistas noradrenérgicos beta-2, Mittal et al. (2017) mostram que a ativação dos receptores noradrenérgicos beta-2 por agonistas e antagonistas, estão associados à expressão do gene SNCA e da proteína alfa-sinucleína, sugerindo que a via noradrenérgica tem grande influência na expressão de alfa-sinucleína e nos mecanismos patogênicos da DP (MITTAL et al., 2017).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Devido ao aumento em novos casos da DP, bem como, pelo entendimento dos sintomas não motores em fases iniciais da doença, muitos estudos têm sido realizados para tentar esclarecer os mecanismos patogênicos associados à DP. Dessa forma, estudos experimentais em modelos animais tem sido uma importante ferramenta para mimetizar esses mecanismos, sintomas motores e não motores envolvidos na doença. Entre os principais modelos animais, estão os modelos induzidos por neurotoxinas, MPTP, 6-OHDA, pesticidas (rotenona, paraquat e maneb), e o modelo animal farmacológico induzido por reserpina (RES) (ALLEN et al., 2014; BASTÍAS-CANDIA; ZOLEZZI; INESTROSA, 2018; DROLET et al., 2004; HAAS et al., 2016; LEÃO et al., 2017; LEE et al., 2015; LIU et al., 2016; SANTOS et al., 2013).

Os modelos animais de parkinsoniano induzido por neurotoxinas são utilizados por mimetizar características comportamentais e neuroquímicas semelhantes às observadas em pacientes da DP. O modelo animal induzido por MPTP, inibe o complexo-I da cadeia transportadora de elétrons causando disfunção mitocondrial, produzindo espécies reativas, as quais podem induzir a morte de neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal, por estresse oxidativo (DROLET et al., 2004; LIU et al., 2015). O modelo animal induzido por 6-OHDA, a qual entra nos neurônios, dopaminérgicos e noradrenérgicos, através dos transportadores de dopamina (DAT) e noradrenalina (NAT), respectivamente, provocando disfunção mitocondrial e consequente formação de radicais livres que podem levar à morte neuronal (GEE et al., 2016). Além dessas neurotoxinas, os modelos animais induzidos por pesticidas, como paraquat, maneb e rotenona, os quais são capazes de entrar nos neurônios dopaminérgicos através do DAT elevando os níveis de estresse oxidativo provocando disfunção da via nigroestriatal (BASTÍAS-CANDIA; ZOLEZZI; INESTROSA, 2018; LIU et al., 2016).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Outro modelo animal amplamente utilizado é o modelo de parkinsonismo induzido por RES. A RES é um alcaloide extraído das plantas *Rauwolfia serpentina*, que atua no sistema nervoso bloqueando, irreversivelmente, o transportador vesicular de monoaminas (VMAT), impedindo a recaptação desses neurotransmissores para o interior das vesículas, levando à depleção das catecolaminas (dopamina, noradrenalina) e serotonina (MEHROTRA et al., 2014). Dessa forma, esse modelo animal tem sido utilizado para mimetizar a natureza progressiva dos sintomas motores da DP, permitindo avaliar de forma mais eficaz o surgimento dos sintomas pré-motores, bem como os mecanismos de compensação envolvidos na síntese de neurotransmissores durante a evolução da doença (SANTOS et al., 2013). Além disso, esse modelo animal apresenta uma redução na expressão de Tirosina hidroxilase (TH) e aumento na expressão de Alfa-sinucleína solúvel (LEÃO et al., 2017), indicando que esse modelo animal apresenta grande relevância em estudos associados a mecanismos neuropatogênicos específicos, bem como, a sintomas motores e não motores da DP (LEÃO et al., 2015; LEE et al., 2015; RECKZIEGEL et al., 2016).

Em adição, o modelo de RES vem sendo utilizado em estudos que visam analisar substâncias antioxidantes e anti-inflamatórias que possivelmente possuam mecanismos que retardem a degeneração de neurônios dopaminérgicos, com potencial neuroprotetor contra diversos mecanismos neurotóxicos. Entre essas substâncias estão o carvacrol (FERREIRA, 2017), Cannabidiol (PERES et al., 2016) e passiflora cincinnata (BRANDÃO et al., 2017) os quais demonstram amenizar os prejuízos motores, cognitivos e neuroquímicos característicos do modelo da RES e da DP.

Com base nesse contexto, estudos têm mostrado que o uso prolongado de fármacos, agonista e antagonista dos receptores noradrenérgicos beta-2, parecem estar associados ao aumento de risco de DP e à regulação do gene SNCA que





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

codifica a expressão de alfa-sinucleína (MITTAL et al., 2017; SEARLES NIELSEN et al., 2018). Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atuação da via noradrenérgica e dopaminérgica, através da manipulação farmacológica dos receptores noradrenérgicos beta-2, sobre o comportamento motor de um modelo animal de parkinsonismo induzido por reserpina.

## **2. Objetivos**

Avaliar o efeito da administração de fármacos noradrenérgicos na expressão de alfa-sinucleína em diferentes regiões encefálicas de animais submetidos ao modelo de parkinsonismo.

## **3. Metodologia**

### **3.1 Animais**

Foram utilizados 67 ratos Wistar entre 6 a 8 meses de idade, provenientes do biotério do Laboratório de Neurofisiologia da Universidade Federal do Sergipe (UFS). Os animais foram alojados em número de 05 em gaiolas plásticas (33 x 40 x 17 cm), sob ventilação e temperatura controladas ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com ciclo claro/escuro de 12h/12h e acesso livre à água e comida. Os animais utilizados neste estudo foram tratados de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo CONCEA e todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (CEPA/UFS, n. 13/2018). Todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais usados e o seu sofrimento.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

### **3.2 Delineamento Experimental**

Os animais foram divididos em seis grupos: controle (CTR –  $n = 11$ ), reserpina (RES –  $n = 12$ ), salbutamol (SALB –  $n = 10$ ), reserpina+salbutamol (R-SALB –  $n = 10$ ), propranolol (PRO –  $n = 11$ ), e reserpina+propranolol (R-PRO –  $n = 13$ ). Os animais receberam 12 injeções por via subcutânea (s.c.) de veículo ou de RES (0,1 mg/kg), administradas a cada 48 horas (SANTOS et al., 2013). A administração de SALB (5 mg/kg), PRO (20 mg/kg), ou veículo foi realizada por via intraperitoneal (i.p.), diariamente (uma a cada dia) após 8ª injeção de RES, após o surgimento dos sintomas motores, durante oito dias, num total de oito injeções de SALB e PRO (HOSSEINI et al., 2017; DO MONTE et al., 2008; SIMSON et al., 2001). Ao longo do experimento os animais foram pesados (a cada quatro dias) e submetidos ao teste comportamental de Catalepsia. Após 48 horas da administração da 12ª injeção de RES os animais foram anestesiados, perfundidos transcardialmente e os encéfalos foram coletados, processados e submetidos a análise de imuno-histoquímica para alfa-sinucleína.

### **3.3 Teste Comportamental**

#### **3.3.1 Catalepsia**

O comportamento de catalepsia foi avaliado diariamente, colocando-se o animal com ambas as patas dianteiras sobre uma barra horizontal de vidro elevada 9,0 cm da superfície de apoio das patas traseiras. O tempo de permanência nesta posição foi considerado como medida da catalepsia e mensurado a latência para o animal realizar o primeiro movimento, ou seja, sair da posição inicial. Os animais foram submetidos três vezes consecutivas ao aparato e



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

o tempo limite de permanência na barra foi de 180 segundos. Para cada avaliação do dia, foi considerada a média do tempo durante as três tentativas (FERNANDES et al., 2012; LINS et al., 2018; SANTOS et al., 2013).

### **3.4 Perfusão dos animais**

Após 48 horas da 12ª injeção de RES realizados no 24ª dia, os animais foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (100mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10mg/Kg) intraperitoneal. Com o animal completamente anestesiado com sobredose de anestésico e imobilizado, foi realizado um acesso a cavidade torácica seccionando-se a pele e partes moles. Ao se expor a cavidade abdominal foi feito uma incisão no diafragma para exposição do coração. Os animais foram perfundidos intracardicamente com tampão fosfato salina (PBS; pH 7,2-7,4) para a lavagem dos vasos, por 10 minutos e, posteriormente, com paraformaldeído 4% (PFA) em tampão fosfato (PB; pH 7,4; 100mM), por 10 minutos, para fixação do tecido. Após a perfusão, os cérebros foram removidos e mergulhados em PFA a 4%, a 4°C por 24 horas. Em seguida, os cérebros foram crioprotetidos por 48 horas em uma solução fixadora de sacarose 30% a 4°C.

Após a perfusão dos animais, as carcaças foram depositadas em sacos plásticos apropriados e armazenadas no freezer de coleta de material biológico situado no biotério do Departamento de Fisiologia da UFS para posterior recolhimento durante a coleta de lixo especializada. Os resíduos perfurocortantes foram armazenados em caixas adequadas e levados até o hospital universitário para descarte junto ao material do hospital.

Os cérebros foram levados a um criostato à -20 °C para obtenção de secções frontais de 50 µm, as quais foram distribuídas sequencialmente em 4 compartimentos, em um meio líquido contendo solução anticongelante. Cada um desses compartimentos corresponderá a 1 de 4 secções, de maneira que a



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

distância entre uma secção e a seguinte seja de aproximadamente 300  $\mu\text{m}$ . Estes cortes foram armazenados em uma solução anticongelante à base de etilenoglicol e PB e posteriormente conservados a 4°C até as reações de imuno-histoquímica.

### **3.5 Imuno-histoquímica**

Após a perfusão dos animais, coleta e processamentos dos encéfalos, as secções dos tecidos foram realizadas em temperatura ambiente (22-25°C), os tecidos foram lavados em Tampão fosfato (PB) 0,1 molar (4 vezes de 5 minutos), depois foram lavados com PB 0,1 molar e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 0,3% para inativação da peroxidase endógena durante 20 minutos, em seguida foi feita lavagem em leite desnatado 5% durante 15 minutos para evitar ligações inespecíficas, ao retirarmos do leite colocamos em uma lavagem com PB por 5 minutos, depois foram encubados em anticorpo primário, anti-alfa-sinucleína (1:1000) (Milipore, USA), diluído em PB contendo Triton-X 100 a 0,4% (ICN Biomedicals) e soro normal de cabra (Sigma Chemical Company) a 2% durante 24 horas (22°C). Em seguida, os tecidos foram encubados em anticorpo secundário biotilado (cabra anti-coelho) na concentração de 1:1000 (Santa Cruz Biotechnology), diluído em PB contendo Triton-X 100 a 0,4%, por 2 horas. Após o anticorpo secundário, as secções foram lavadas e em seguida encubadas durante 2 horas no complexo avidina biotina (ABC Elite kit, Vector Labs, Burlingame, USA). Para revelação, os cortes foram colocados em contato com o cromógeno, a diaminobenzidina (DAB) (Sigma, St Louis, MO, USA) a 2,5% diluída em PB (0,1M / pH 7,4) e 0,01% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

As secções foram montadas em lâmina previamente gelatinizadas, e em seguida foram desidratadas através da exposição a concentrações crescentes de álcoois, clareadas com xilol e as lamínulas fixadas com Entellan (Merck). As secções foram examinadas por iluminação de campo claro (Nikon Eclipse Ci-S,) e



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

as imagens capturadas utilizando-se uma câmera digital (Nikon, Ds-fi1c) acoplada ao microscópio e as localizações das áreas foram determinadas usando o atlas Paxinos e Watson (2007).

### **3.6 Aquisição de Imagens, Densidade Óptica Relativa (DOR)**

Após a imuno-histoquímica e montagem das lâminas, as secções foram fotografadas por microscópio de iluminação de campo claro (Nikon Microscope, H550S) com câmera digital (Nikon, DXM-1200) acoplada ao microscópio e a um programa de computador específico para essa finalidade. Para a análise da DOR as imagens foram obtidas em um mesmo momento, submetidas a uma mesma intensidade de luz, sem passarem por qualquer modificação de brilho e contraste, uma vez que os valores em pixels encontrados em cada imagem corresponderam a uma intensidade maior ou menor de marcação de determinada substância do tecido analisado. Cada animal analisado foi representado por imagens das áreas em aumento de 10x, nas quais foram possíveis a visualização em detalhes da presença ou ausência de células imunorreativas nos tecidos. A contagem de célula foi realizada pelo software ImageJ (versão 1.6.0). Foram analisadas 4 secções do cérebro de cada animal e o número de células mensurado correspondeu à média de células em 4 secções analisadas. As áreas analisadas foram substância negra reticulada (SNr) e estriado dorsal, as quais foram delimitadas com base no atlas de Paxinos e Watson (2007). Todas as análises foram realizadas de forma "cega", onde o experimentador não soube a que grupo pertencia cada imagem a analisada. Os valores para cada animal foram normalizados pela média dos valores obtidos pelos animais do grupo controle.

### **3.7 Estatística**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Os dados obtidos foram analisados através de testes de normalidade, de esfericidade e homocedasticidade Shapiro-Wilk e após essa análise, testes comportamentais foram analisados estatisticamente através da ANOVA de duas vias de medias repetidas e a DOR e para contagem de células todos os dados foram normalizados pelo grupo CTR e analisados através da ANOVA de uma via. Ambas as análises foram seguidas pelo pós-teste de Fisher's (LSD). Foram consideradas estatisticamente significativas, diferenças quando  $p < 0,05$  e os dados são expressos em Média  $\pm$  Erro padrão da média ( $\pm$  E. M. P.). O programa para a realização do teste estatístico foi utilizado o *Software Graphpad Prism6.0*.

#### **4. Resultados E Discussões**

No presente estudo, avaliamos o déficit motor através do teste de Catalepsia e a expressão de alfa-sinucleína nas áreas da SNr e Estriado dorsal em um modelo de parkinsonismo induzido por reserpina tratados com agonista e antagonista noradrenérgico (salbutamol e propranolol, respectivamente), para melhor compreender a atuação da via noradrenérgica na fisiopatologia da DP.

##### **4.1 Teste de Catalepsia**

A ANOVA de duas vias com medidas repetida mostrou efeito de tempo (dias de tratamento) [ $F(12, 732) = 95,91$ ;  $p < 0,001$ ], tratamento [ $F(5, 61) = 27,9$ ;  $p < 0,001$ ] e interação tempo x tratamento [ $F(60, 732) = 14,67$ ;  $p < 0,001$ ]. O pós-teste LSD revelou aumento significativo no tempo de latência para iniciar o movimento (tempo de catalepsia) dos grupos R-SALB e R-PRO a partir do dia 16 (48 horas após a 8ª injeção de RES) e do grupo RES a partir do dia 18 (48 horas após a 9ª

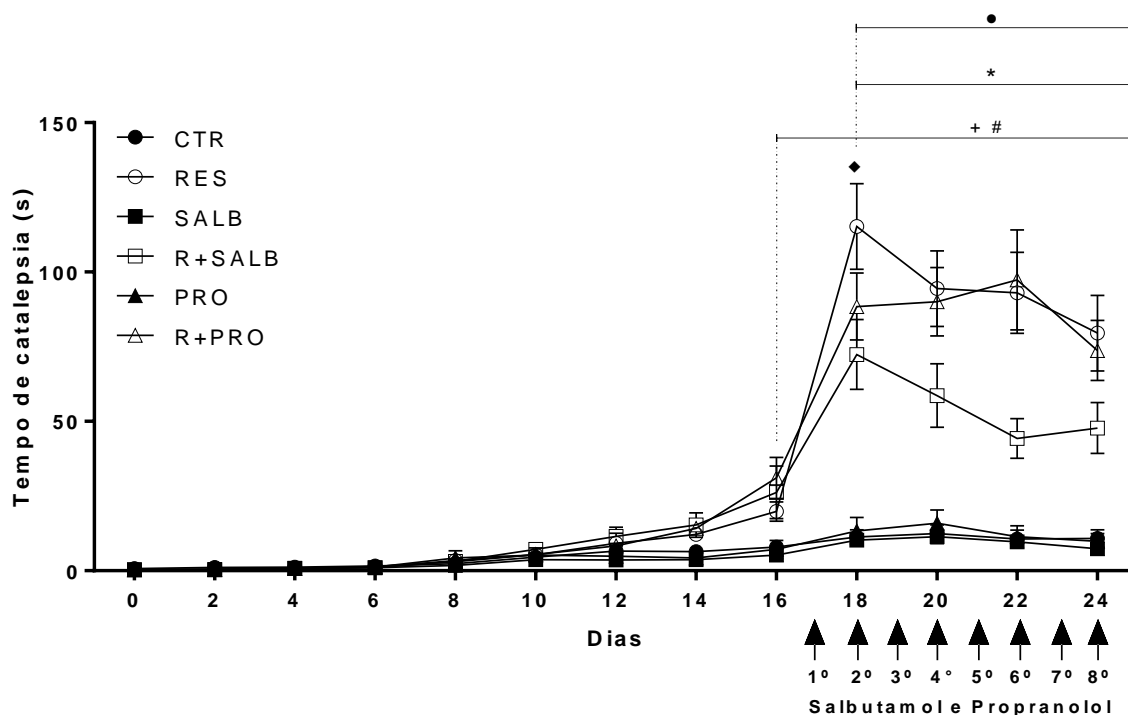


**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

injeção de RES) quando comparados aos grupos controle, SALB [ $^{16}p < 0,01$ ;  $^{18, 20, 22, 24}p < 0,001$ ], PRO [ $^{16, 18, 20, 22, 24}p < 0,001$ ] CTR [ $^{18, 20, 22, 24}p < 0,001$ ], respectivamente. O pós-teste LSD também mostrou que os grupos R-SALB e R-PRO apresentaram uma diminuição significativa no tempo de catalepsia a partir do dia 18 (48 horas após a 9ª injeção de RES e 24 horas após a 1ª injeção de SALB e PRO) quando comparado ao grupo RES [ $^{18, 20, 22, 24}p < 0,001$ ] e [ $^{18}p < 0,001$ ], respectivamente. Além disso, o LSD revelou que o grupo R-SALB apresentou uma diminuição significativa no tempo de catalepsia a partir do dia 18 (48 horas após a 9ª injeção de RES e 24 horas após a 1ª injeção de SALB e PRO) quando comparado ao grupo R-PRO [ $^{18}p < 0,05$ ;  $^{20, 22, 24}p > 0,001$ ] (Figura 1).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



**Figura 1.** Efeito da administração repetida de salbutamol (5 mg/kg) e propranolol (20 mg/kg) no comportamento de catalepsia de um modelo de parkinsonismo induzido por reserpina (0,1 mg/kg). A ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou efeito de tempo, tratamento e interação tempo x tratamento no tempo de catalepsia. O pós-teste LSD revelou aumento no tempo de catalepsia dos grupos R-SALB e R-PRO, a partir da 8ª injeção de RES, e do grupo RES, a partir da 9ª injeção de RES, quando comparado aos seus grupos controles, respectivamente. O grupo R-SALB também apresentou menor tempo de catalepsia a partir 9ª injeção de RES quando comparado ao grupo RES e R-PRO, enquanto o grupo R-PRO só apresentou menor tempo de catalepsia, comparado ao grupo RES, 48 horas após a 9ª injeção de RES. Os valores são expressos como média  $\pm$  E. P. M. Foram considerados \* $p < 0,05$  quando comparado os grupos CTR x RES; # $p < 0,05$  quando comparado os grupos SALB x R-SALB; + $p < 0,05$  quando comparado os grupos PRO x R-PRO; • $p < 0,05$  quando comparado os grupos RES x R-SALB; e ♦ $p < 0,05$  quando comparado os grupos RES x R-PRO.

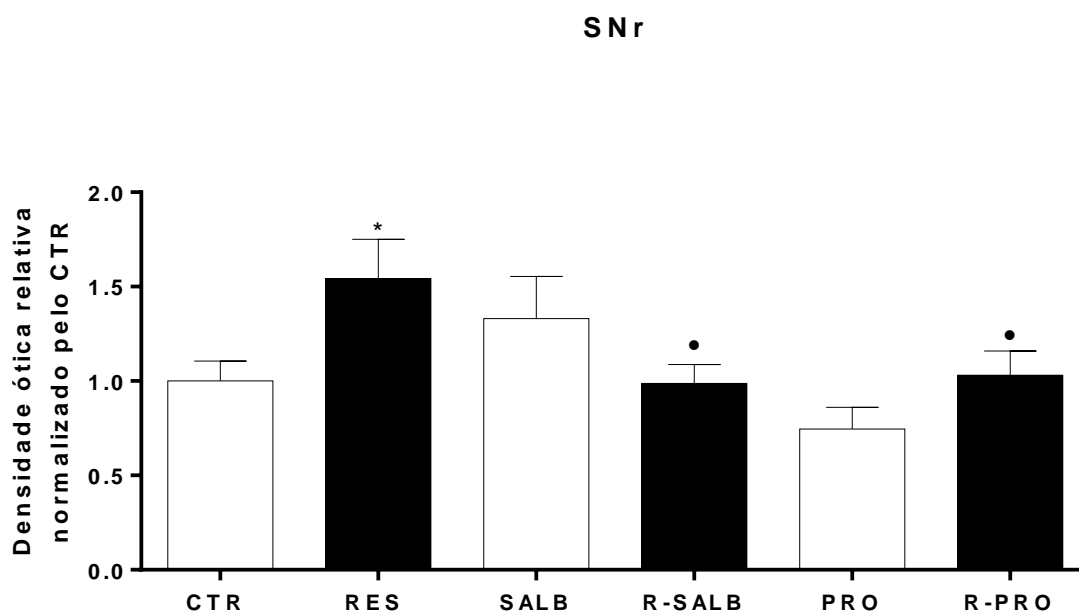
#### 4.2 Análise Histológica





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Para análise da DOR na SNr, a ANOVA de uma via mostrou efeito do tratamento [ $F(5, 24) = 3,319$ ;  $p = 0,02$ ]. O pós-teste LSD revelou um aumento da DOR para expressão de alfa-sinucleína no grupo RES quando comparado aos grupos, CTR [ $p < 0,05$ ], R-SALB [ $p < 0,01$ ] e R-PRO [ $p < 0,05$ ] (Figura 2 e 4).



**Figura 2.** Efeito da administração repetida de salbutamol (5 mg/kg) e propranolol (20 mg/kg) na DOR para expressão de alfa-sinucleína na SNr de um modelo de parkinsonismo induzido por reserpina (0,1 mg/kg). A ANOVA de uma via mostrou que a administração de SALB e PRO impediu o aumento da DOR para alfa-sinucleína na SNr. O pós-teste LSD revelou um aumento na DOR para expressão de alfa-sinucleína no grupo RES quando comparado aos grupos CTR, R-SALB e R-PRO. Todos os dados foram normalizados pelo grupo CTR e os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M. Foram considerados \* $p < 0,05$  quando comparado os grupos CTR x RES; • $p < 0,05$  quando comparado os grupos RES x R-SALB e RES x R-PRO.

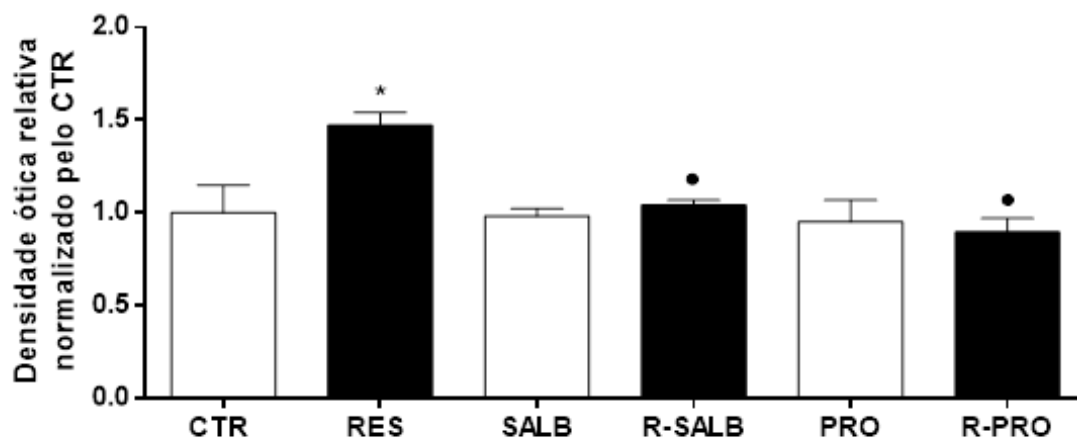
Para análise da DOR no estriado dorsal, a ANOVA de uma via mostrou efeito do tratamento [ $F(5, 24) = 5,470$ ;  $p < 0,001$ ]. O pós-teste LSD revelou um aumento



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

da DOR para expressão de alfa-sinucleína no grupo RES quando comparado aos grupos, CTR [ $p < 0,001$ ], R-SALB [ $p < 0,01$ ] e R-PRO [ $p < 0,001$ ] (Figura 3 e 4).

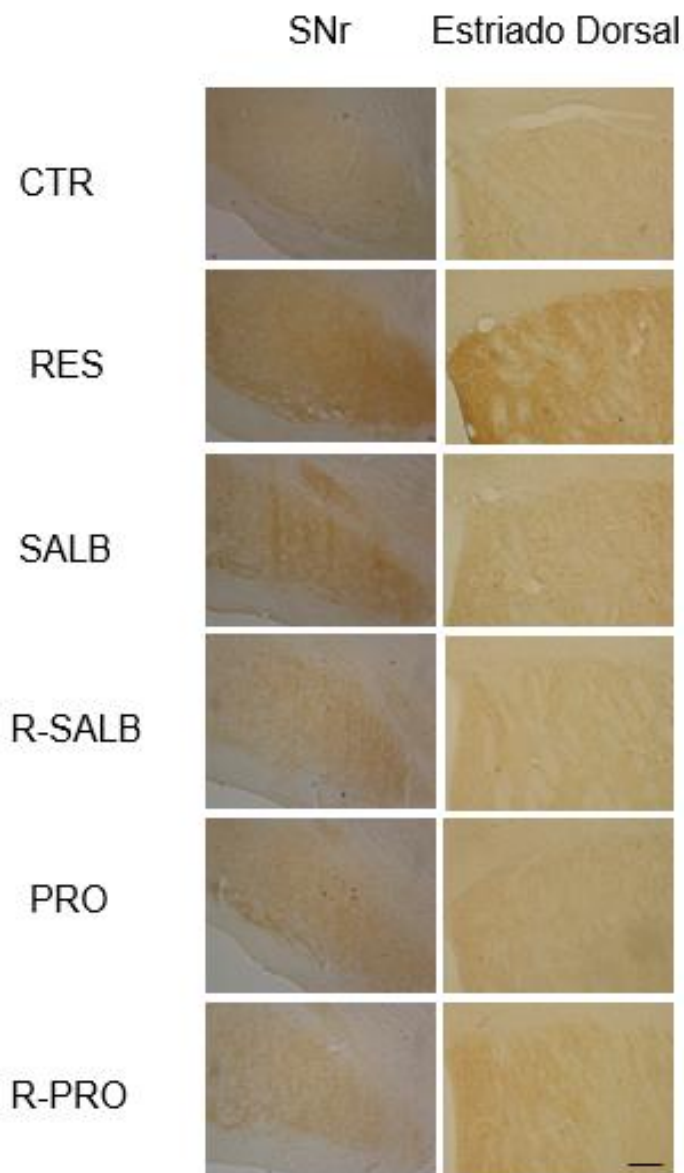
**Estriado dorsal**



**Figura 3.** Efeito da administração repetida de salbutamol (5 mg/kg) e propranolol (20 mg/kg) na DOR para expressão de alfa-sinucleína no estriado dorsal de um modelo de parkinsonismo induzido por reserpina (0,1 mg/kg). A ANOVA de uma via mostrou que a administração de SALB e PRO impediu o aumento da DOR para alfa-sinucleína no estriado dorsal. O pós-teste LSD revelou um aumento da DOR para expressão de alfa-sinucleína no grupo RES quando comparado aos grupos CTR, R-SALB e R-PRO. Todos os dados foram normalizados pelo grupo CTR e expressos como média  $\pm$  E.P.M. Foram considerados \* $p < 0,05$  quando comparado os grupos CTR x RES; • $p < 0,05$  quando comparado os grupos RES x R-SALB e RES x R-PRO.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



**Figura 2.** Imuno-histoquímica para alfa-sinucleína. Secções da substância negra reticulada (SNr) e estriado dorsal de animais induzido ao parkinsonismo por reserpina (0,1 mg/kg) tratados com com salbutamol (5 mg/kg) e propranolol (20 mg/kg). Imagem representativa mostra um aumento da marcação de alfa-sinucleína no grupo RES quando comparado aos grupos R-SALB e R-Pro na SNr e estriado dorsal. Escala da barra: 100  $\mu$ m.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

No presente estudo observamos que o tratamento com agonista e antagonista dos receptores noradrenérgicos beta-2 (Salbutamol e propranolol, respectivamente) provocam uma diminuição no tempo de catalepsia e um aumento na DOR da alfa-sinucleína na SNr e no estriado dorsal de um modelo animal de parkinsonismos induzido por RES.

O modelo animal de parkinsonismo induzido por RES tem sido amplamente utilizado para estudar os sintomas motores e não motores da DP, uma vez que, a progressividade dos sintomas permite separar a fase pré-motora da fase motora e assim possibilitar a investigação de mecanismos patológicos envolvidos em cada uma dessas fases (BISPO, 2016; CAMPÊLO, 2013; LINS et al., 2018; SANTOS et al., 2013; SOUZA, 2011). No presente trabalho, observamos que a administração repetida de SALB provocou redução no tempo de catalepsia induzido pela RES, corroborando com os achados de Andén et al. (1973) onde mostram que a mudança na atividade do receptor de noradrenalina podem afetar substancialmente a atividade motora, desde que haja uma certa atividade do receptor de dopamina (ANDÉN et al., 1973). Além disso, estudos epidemiológicos mostram que o tratamento com fármacos agonistas de receptores noradrenérgicos beta-2, como o SALB, estão associados a um menor risco do desenvolvimento da DP (GRONICH et al., 2018; HOPFEN et al., 2019). Dessa forma, esses dados sugerem que a ativação de receptores noradrenérgicos beta-2 ou a ativação da via noradrenérgica pode amenizar os sintomas motores da DP.

Por outro lado, apesar de bem descritos os parâmetros comportamentais do modelo de parkinsonismo induzido por RES, poucos estudos têm investigado os mecanismos neuroquímicos envolvidos na DP (BELLUCCI et al., 2011; BISPO, 2016; LEAL et al., 2016, 2019, LEÃO et al., 2015, 2017; LINS et al., 2018; OIKAWA et al., 2016; SANTOS et al., 2013).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

A alfa-sinucleína é uma proteína pré-sináptica e sua função específica, ainda não é bem conhecida, apesar de abundante no cérebro humano (BENDOR; LOGAN; EDWARDS, 2013). Sua forma monômera não apresenta funções tóxicas, no entanto sua forma fibrilar apresenta alta toxicidade aos neurônios (OIKAWA et al., 2016), dessa forma, essa proteína tem importante papel na patologia da DP, uma vez que, sua agregação induz a vários mecanismos que culminam na neurodegeneração dopaminérgica em áreas cerebrais responsáveis pela função motora e cognitiva (PERFEITO et. al., 2013)

Estudos mostram que a agregação de alfa-sinucleína na SNpc de cérebros de macacos e camundongos induzidos ao parkinsonismo por MPTP, desenvolvem sintomas característicos da DP (HUANG et al., 2018; KANG et al., 2018). Da mesma forma, é observado um aumento da expressão dessa proteína no estriado de ratos tratados com 6-OHDA (QUIROGA-VARELA et al., 2017) e aumento de expressão de alfa-sinucleína solúvel na SNr e estriado dorsal do modelo animal induzido por RES (LEÃO et al., 2017).

No presente trabalho avaliamos a expressão de alfa-sinucleína através da análise por DOR e observamos que RES provoca um aumento da DOR da Alfa-sinucleína na SNr e no estriado dorsal, como mostrado por Leão et. al. (2017), e que a administração repetida de SALB e PRO impediu esse aumento nos grupos R-SALB e R-PRO, como mostrado por Mittal et al. (2017) que observou uma redução na expressão e alfa-sinucleína 24 horas após a administração de um agonista do receptor noradrenérgico beta-2 em células em meio de culturas e o aumento de células imunorreativas a TH<sup>+</sup> em um modelo de parkinsonismos induzido por MPTP. Esses dados sugerem que a ativação dos receptores noradrenérgicos beta-2 podem regular a expressão de alfa-sinucleína e reduzir os riscos da DP.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

Dessa forma, nossos dados sugerem que a mudança na atividade dos receptores noradrenérgicos beta-2, por agonistas ou antagonistas, pode amenizar o déficit motor e regular a expressão de alfa-sinucleína em um modelo animal de parkinsonismo induzido por RES, o qual tem sido uma importante ferramenta para o estudo dos mecanismos fisiopatológicos da DP. No entanto, apesar da relação neurotóxica entre a alfa-sinucleína e a DP (TOLÖ et al., 2018), os mecanismos patogênicos associados à essa proteína são pouco compreendidos e outros estudos são necessários.

## **5. Conclusões**

Neste estudo demonstramos que a administração repetida de agonista e antagonista dos receptores noradrenérgicos beta-2 (SAL e PRO, respectivamente) são capazes de reduzir os déficits motores induzidos e impedir o aumento da DOR para expressão de alfa-sinucleína na SNr e no estriado dorsal de um modelo de parkinsonismo induzido por RES. Dessa forma, esses dados mostram que a atividade da via noradrenérgica, através dos receptores beta-2, podem amenizar os sintomas motores, regular a expressão de alfa-sinucleína e, possivelmente, reduzir os riscos da DP. No entanto, novos estudos são necessários para esclarecer os mecanismos reguladores envolvidos entre esses receptores e expressão de alfa-sinucleína.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

## **6. Perspectivas De Trabalhos Futuros**

O presente trabalho mostrou que a via noradrenérica apresenta importante participação na regulação da expressão da principal proteína envolvida na fisiopatologia da DP, e que a administração de fármacos prescritos para doenças cardiovasculares e, principalmente, pulmonares, que atuam na via noradrenérgica, estão envolvidos na redução do risco da DP. Dessa forma, esse trabalho abre portas para investigação da atuação da via noradrenérgica sobre os mecanismos fisiopatológicos da doença, bem como sobre os mecanismos regulatórios entre os receptores noradrenérgicos beta-2 e a expressão de alfa-sinucleína.

## **7. Referências Bibliográficas**

- AARSLAND, D. et al. Cognitive decline in Parkinson disease. v. 13, n. 4, p. 217–231, 2017.
- ALLEN, J. et al. Consequences of Developmental Exposure to Concentrated Ambient Ultrafine Particle Air Pollution Combined with the Adult Paraquat and Maneb Model of the Parkinson's Disease Phenotype in Male Mice. v. 86, n. 3, p. 573–579, 2014.
- ALMEIDA, M. F. et al. Aged Lewis rats exposed to low and moderate doses of rotenone are a good model for studying the process of protein aggregation and its effects upon central nervous system cell physiology. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 74, n. 9, p. 737–744, 2016.
- ANDÉN, N.-E.; STRÖMBOM, U.; SVENSSON, T. H. Dopamine and Noradrenaline Receptor Stimulation: Reversal of Reserpine-Induced Suppression of Motor Activity. v. 29, p. 289–298, 1973.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ASCHERIO, A.; SCHWARZSCHILD, M. A. **The epidemiology of Parkinson ' s disease : risk factors and prevention.** [s.l: s.n.]. v. 15

BASTÍAS-CANDIA, S.; ZOLEZZI, J. M.; INESTROSA, N. C. Revisiting the Paraquat-Induced Sporadic Parkinson ' s Disease-Like Model. 2018.

BELLUCCI, A. et al. Redistribution of DAT/ $\alpha$ -synuclein complexes visualized by "in situ" proximity ligation assay in transgenic mice modelling early Parkinson's disease. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.

BERRIOS, G. E. Introdução à "Paralisia agitante", de James Parkinson (1817). **Revista Latinoamericana de Psicopatologia Fundamental**, v. 19, n. 1, p. 114–121, 2016.

BISPO, J. M. M. ALTERAÇÕES MOTORAS E IMUNOHISTOQUÍMICA DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA EM RATOS, DE AMBOS OS SEXOS, SUBMETIDOS AO MODELO DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RESERPINA. 2016.

BRANDÃO, L. E. M. et al. Passiflora cincinnata Extract Delays the Development of Motor Signs and Prevents Dopaminergic Loss in a Mice Model of Parkinson's Disease. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 14–16, 2017.

BURKE, R. E.; MALLEY, K. O. Axon degeneration in Parkinson ' s disease. **Experimental Neurology**, v. 246, p. 72–83, 2013.

CAMPÊLO, C. L. C. Efeitos Da Estimulação Ambiental Sobre Os Aspectos Motores, Cognitivos E Neurais Em Um Modelo Farmacológico Progressivo Da Doença De Parkinson. p. 111, 2013.

CHALON, S.; GROSS, C. E.; BEZARD, E. Time-Course of Nigrostriatal Degeneration in a Progressive MPTP-Lesioned Macaque Model of Parkinson ' s Disease Wassilios Meissner , 1 Caroline Prunier , 2 Denis Guilloteau , 2. v. 28, n. 3, p. 209–218, 2003.





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

ÇOLAK, Ö. F.; ÖZTÜRKLER, H. Clinical Progression in Parkinson's Disease and the Neurobiology of Axons. **Bankacılar Dergisi**, v. 67, n. 82, p. 3–44, 2012.

DI BIASE, L.; FASANO, A. Low-frequency deep brain stimulation for Parkinson's disease: Great expectation or false hope? **Movement Disorders**, v. 31, n. 7, p. 962–967, 2016.

DO MONTE, F. H. M. et al. New Perspectives on  $\alpha$ -Adrenergic Mediation of Innate and Learned Fear Responses to Predator Odor. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 49, p. 13296–13302, 2008.

DROLET, R. E. et al. Mice lacking  $\alpha$ -synuclein have an attenuated loss of striatal dopamine following prolonged chronic MPTP administration. **NeuroToxicology**, v. 25, n. 5, p. 761–769, 2004.

FERNANDES, V. S. et al. Repeated treatment with a low dose of reserpine as a progressive model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 231, n. 1, p. 154–163, 2012.

FERREIRA, L. C. R. Efeito Neuroprotetor Do Carvacrol Em Dois Modelos Experimentais De Doença De Parkinson: Evidências Comportamentais e Imunohistoquímicas. 2017.

GEE, L. E. et al. Subthalamic deep brain stimulation alters neuronal firing in canonical pain nuclei in a 6-hydroxydopamine lesioned rat model of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, v. 283, p. 298–307, 2016.

GRONICH, N. et al.  $\beta$  2-Adrenoceptor Agonists and Antagonists and Risk of Parkinson ' s Disease. v. 33, n. 9, p. 1465–1471, 2018.

GROSCH, J.; WINKLER, J.; KOHL, Z. Early Degeneration of Both Dopaminergic and Serotonergic Axons – A Common Mechanism in Parkinson's Disease. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 10, n. December, p. 1–8, 2016.

HAAS, S. J.-P. et al. Expression of Tgf $\beta$ 1 and Inflammatory Markers in the 6-hydroxydopamine Mouse Model of Parkinson's Disease. **Frontiers in Molecular**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**Neuroscience**, v. 9, n. February, p. 1–14, 2016.

HALLIDAY, G. et al. The neurobiological basis of cognitive impairment in Parkinson ' s disease . PubMed Commons. **Movement Disorders**, v. 29, n. 5, p. 634–650, 2014.

HIRSCH, L. et al. The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Neuroepidemiology**, v. 46, n. 4, p. 292–300, 2016.

HOPFEN, F. et al. Use of  $\beta$  2-adrenoreceptor agonist and antagonist drugs and risk of Parkinson disease. 2019.

HU, D. et al. LRRK2 G2019S Mutation Inhibits Degradation of  $\alpha$  -Synuclein in an In Vitro Model of Parkinson ' s Disease \*. v. 38, n. 6, p. 1012–1017, 2018.

HUANG, B. et al. Phosphorylated  $\alpha$ -Synuclein Accumulations and Lewy Body-like Pathology Distributed in Parkinson's Disease-Related Brain Areas of Aged Rhesus Monkeys Treated with MPTP. **Neuroscience**, v. 379, p. 302–315, 2018.

KANG, S. S. et al.  $\alpha$ -Synuclein stimulation of monoamine oxidase-B and legumain protease mediates the pathology of Parkinson's disease. **The EMBO journal**, p. e201798878, 2018.

KOTAGAL, V. et al. Cerebral amyloid deposition and serotonergic innervation in Parkinson disease. **Archives of Neurology**, v. 69, n. 12, p. 1628–1631, 2012.

LEAL, P. C. et al. Commentary: Evaluation of models of Parkinson's disease. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, n. JUN, p. 1–4, 2016.

LEAL, P. C. et al. Cognitive and anxiety-like impairments accompanied by serotonergic ultrastructural and immunohistochemical alterations in early stages of parkinsonism. **Brain Research Bulletin**, v. 146, n. January, p. 213–223, 2019.

LEÃO, A. H. F. F. et al. Molecular, Neurochemical, and Behavioral Hallmarks of Reserpine as a Model for Parkinson's Disease: New Perspectives to a Long-Standing Model. **Brain Pathology**, v. 25, n. 4, p. 377–390, 2015.

LEÃO, A. H. F. F. et al. Spontaneously hypertensive rats (SHR) are resistant to a



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

reserpine-induced progressive model of Parkinson's disease: Differences in motor behavior, tyrosine hydroxylase and  $\alpha$ -synuclein expression. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, n. MAR, p. 1–13, 2017.

LEE, K. IL et al. The anti-hypertensive drug reserpine induces neuronal cell death through inhibition of autophagic flux. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 462, n. 4, p. 402–408, 2015.

LEE, S. Y. et al. Generation of gene-corrected iPSC line from Parkinson's disease patient iPSC line with alpha-SNCA A53T mutation. **Stem Cell Research**, v. 30, n. April, p. 145–149, 2018.

LINS, L. C. R. F. et al. Carvacrol prevents impairments in motor and neurochemical parameters in a model of progressive parkinsonism induced by reserpine. **Brain Research Bulletin**, v. 139, 2018.

LIU, J. et al. Piperine induces autophagy by enhancing protein phosphatase 2A activity in a rotenone-induced Parkinson's disease model. **Oncotarget**, v. 7, n. 38, p. 60823–43, 2016.

LIU, L. et al. Protective role of SIRT5 against motor deficit and dopaminergic degeneration in MPTP-induced mice model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 281, p. 215–221, 2015.

MAO, C. et al. CHCHD10 is involved in the development of Parkinson's disease caused by CHCHD2 loss-of-function mutation p.T61I. **Neurobiology of Aging**, v. 75, p. 38–41, 2019.

MEHROTRA, S. et al. Hairy root biotechnology of Rauwolfia serpentina: a potent approach for the production of pharmaceutically important terpenoid indole alkaloids. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 2, p. 253–263, 2014.

MITTAL, S. et al.  $\beta$ 2-Adrenoreceptor is a regulator of the  $\alpha$ -synuclein gene driving risk of Parkinson's disease. v. 898, n. September, p. 891–898, 2017.

OIKAWA, T. et al.  $\alpha$ -Synuclein fibrils exhibit gain of toxic function, promoting tau



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

aggregation and inhibiting microtubule assembly. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 29, p. 15046–15056, 2016.

PARKINSON, J. Um Ensaio sobre a Paralisia Shaking. p. 223–236, 2002.

PERES, F. F. et al. Cannabidiol prevents motor and cognitive impairments induced by reserpine in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. SEP, p. 1–10, 2016.

PFEIFFER, R. F. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 22, p. S119–S122, 2016.

POLITIS, M.; NICCOLINI, F. Serotonin in Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 277, p. 136–145, 2015.

POLYMERPOULOS, M. H. et al. Mutation in the  $\alpha$ -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. **Science**, v. 276, n. 5321, p. 2045–2047, 1997.

PONT-SUNYER, C. et al. The Onset of Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease ( The ONSET PD Study ). v. 00, n. 00, p. 1–9, 2014.

PRINGSHEIM, T. et al. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. **Movement Disorders**, v. 29, n. 13, p. 1583–1590, 2014.

QUIROGA-VARELA, A. et al. Short- and long-term effects induced by repeated 6-OHDA intraventricular administration: A new progressive and bilateral rodent model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, v. 361, p. 144–156, 2017.

RECKZIEGEL, P. et al. Extracellular dopamine and alterations on dopamine transporter are related to reserpine toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Archives of Toxicology**, v. 90, n. 3, p. 633–645, 2016.

ROUSSEAU, M. W. C.; HARO, M. DE; ZOGHBI, H. Y. TRIM28 regulates the nuclear accumulation and toxicity of both  $\alpha$ -synuclein and tau eLife digest Results TRIM28 is a key regulator of  $\alpha$ -Syn and tau levels. p. 1–21, 2018.

SANTOS, J. R. et al. Cognitive, motor and tyrosine hydroxylase temporal impairment in a model of parkinsonism induced by reserpine. **Behavioural Brain**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**Research**, v. 253, p. 68–77, 2013.

SEARLES NIELSEN, S. et al.  **$\beta$ 2-adrenoreceptor medications and risk of Parkinson disease** *Annals of Neurology*, 2018.

SIMSON, P. E. et al. Dose-sensitive excitation and inhibition of spontaneous amygdala activity by propranolol. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 69, n. 1–2, p. 85–92, 2001.

SOMMERAUER, M. et al. Evaluation of the noradrenergic system in Parkinson ' s disease : an 11 C-MeNER PET and neuromelanin MRI study. n. January, p. 1–9, 2018.

SOUZA, R. I. A. F. Administração repetida de baixas doses de reserpina : um possível modelo para o estudo de déficits cognitivos e motores associados à Doença de Parkinson. 2011.

SUGAMA, S. et al. Chronic restraint stress triggers the dopaminergic and noradrenergic neurodegeneration: possible role of chronic stress for the onset of Parkinson's disease. **Anticancer Research**, v. 34, n. 4, p. 1939–1946, 2014.

SUGAMA, S.; KAKINUMA, Y. Loss of dopaminergic neurons occurs in the ventral tegmental area and hypothalamus of rats following chronic stress: Possible pathogenetic loci for depression involved in Parkinson's disease. **Neuroscience Research**, v. 111, p. 48–55, 2016.

TOLÖ, J. et al. Pathophysiological Consequences of Neuronal  $\alpha$ -Synuclein Overexpression: Impacts on Ion Homeostasis, Stress Signaling, Mitochondrial Integrity, and Electrical Activity. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, n. March, p. 1–21, 2018.

TYSNES, O. B.; STORSTEIN, A. Epidemiology of Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 124, n. 8, p. 901–905, 2017.

VILLEGAS PEDRAZA, N. L. et al. Análisis funcional de oligómeros de alfa-sinucleína en la permeabilidad de membranas. **Acta bioquím. clín. latinoam**, v.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

48, n. 4, p. 437–445, 2014.

WALUSINSKI, O.; VULPIAN, A.; LONDE, A. History of Neurology Jean-Martin Charcot and Parkinson ' s disease: Teaching and teaching materials. **Revue Neurologique**, v. 4, p. 1–15, 2018.

WU, T. et al. Basal ganglia circuits changes in Parkinson's disease patients. **Neuroscience Letters**, v. 524, n. 1, p. 55–59, 2012.

ZAFAR, F. et al. Genetic fine-mapping of the lowan SNCA gene triplication in a patient with Parkinson ' s disease. **npjParkinson's Disease**, n. October 2017, 2018.

ZHANG, T. et al. Nonmotor symptoms in patients with Parkinson disease. v. 50, n. April, 2016.

## **8. Outras Atividades**

Ao longo da iniciação científica, participei de reuniões semanais do grupo de pesquisa, para a discussão de artigos científicos e metodologias a serem aplicadas ao projeto, bem como, discussões sobre diferentes temas de interesse do grupo e participação como ouvinte ou apresentação de trabalho, em eventos científicos locais e nacionais, I Simpósio de Ciências Naturais de Sergipe (I SCIENSE), V Semana Acadêmica da UFS (V SEMAC), VI Semana de Biologia de Itabaiana (VI Sebita) e XLI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (XLI SBNeC).

Dentre as atividades necessárias para realização do projeto, foram realizadas buscas de artigos científicos, em periódicos como PUBMED, Periódicos CAPES e Scientific Direct, para embasamento científico e metodológico de todas as etapas do projeto, bem como para interpretação dos dados coletados e produção do relatório final.